

A

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

**NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE**

(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

ANDRAE, Steffen
Andrae, Flach, Haug
Balanstrasse 55
D-81541 München
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 01 November 2000 (01.11.00)	Applicant's or agent's file reference 3009 PCT
International application No. PCT/EP00/01304	International filing date (day/month/year) 18 February 2000 (18.02.00)

IMPORTANT NOTIFICATION

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant
 ☒ the inventor
 ☐ the agent
 ☐ the common representative

Name and Address

SHEPHERD, Philip, S.
187 Banstead Road
Carshalton
Surrey
United Kingdom

State of Nationality

GB

State of Residence

GB

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person
 ☐ the name
 ☒ the address
 ☐ the nationality
 ☐ the residence

Name and Address

SHEPHERD, Philip, S.
187 Banstead Road
Carshalton Beeches
Surrey SM5 4DP
United Kingdom

State of Nationality

GB

State of Residence

GB

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office
 ☐ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority
 ☒ the elected Offices concerned
☒ the International Preliminary Examining Authority
 ☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

N. Wagner

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

The first part of the paper discusses the importance of the study of the history of the United States. It is argued that the study of history is essential for a full understanding of the present. The second part of the paper discusses the importance of the study of the history of the United States. It is argued that the study of history is essential for a full understanding of the present. The third part of the paper discusses the importance of the study of the history of the United States. It is argued that the study of history is essential for a full understanding of the present.

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
 United States Patent and Trademark
 Office
 Box PCT
 Washington, D.C. 20231
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 27 September 2000 (27.09.00)	
International application No. PCT/EP00/01304	Applicant's or agent's file reference 3009 PCT
International filing date (day/month/year) 18 February 2000 (18.02.00)	Priority date (day/month/year) 19 February 1999 (19.02.99)
Applicant BERGMANN, Andreas et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

24 August 2000 (24.08.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☒ was☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
 34, chemin des Colombettes
 1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Charlotte ENGER

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

The first part of the paper discusses the importance of the study of the history of the United States. It is argued that the study of history is essential for a full understanding of the present. The second part of the paper discusses the importance of the study of the history of the United States. It is argued that the study of history is essential for a full understanding of the present. The third part of the paper discusses the importance of the study of the history of the United States. It is argued that the study of history is essential for a full understanding of the present.

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

3

Applicant's or agent's file reference 3009 PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/01304	International filing date (<i>day month year</i>) 18 February 2000 (18.02.00)	Priority date (<i>day month year</i>) 19 February 1999 (19.02.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07K 16.28		
Applicant B.R.A.H.M.S DIAGNOSTICA GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☒ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 24 August 2000 (24.08.00)	Date of completion of this report 26 April 2001 (26.04.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/01304

I. Basis of the report

1 This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments*)

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description. pages 1-22 , as originally filed.
 pages _____ , filed with the demand.
 pages _____ , filed with the letter of _____ ,
 pages _____ , filed with the letter of _____ .
- ☒ the claims. Nos. 1-9 , as originally filed.
 Nos. _____ , as amended under Article 19.
 Nos. _____ , filed with the demand,
 Nos. _____ , filed with the letter of _____ ,
 Nos. _____ , filed with the letter of _____ .
- ☒ the drawings. sheets/fig 1/3-3/3 , as originally filed.
 sheets/fig _____ , filed with the demand.
 sheets/fig _____ , filed with the letter of _____ ,
 sheets/fig _____ , filed with the letter of _____ .

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description. pages _____
- ☐ the claims. Nos. _____
- ☐ the drawings. sheets/fig _____

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/01304

III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☐ claims Nos. 1-6

because:

- ☐ the said international application, or the said claims Nos. 1-6 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

See supplemental sheet.

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. 1-3 are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

See supplemental sheet.

- ☒ the claims, or said claims Nos. 1-3 are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☐ no international search report has been established for said claims Nos. _____



Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: III.1:

1.

- (a) Point 2(c)(iii) below makes it clear that the following feature is necessary for the definition of the blocking antibodies of the invention:

All these antibodies bind specifically to the amino acid sequence 381-384 (FDSH or Phe-Asp-Ser-His) of the hTSH receptor (see page 20, lines 16-19).

- (b) No other blocking antibodies for the treatment of hyperthyreoses and endocrine orbitopathy are available to the person skilled in the art. It does not seem possible to identify other blocking antibodies solely by routine experimentation or analysis.
- (c) Since the antibodies referred to in **Claims 1-3** do not suggest this essential technical feature, these claims are unclear and are not adequately supported by the description.
- (d) **Claims 1-6** relate to a subject matter which this Authority considers to be covered by PCT Rule 67.1(iv). No opinion will therefore be established with regard to the industrial applicability of the subject matter of these claims (PCT Article 34(4)(a)(i)).



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 00/01304

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	4-9	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	4-9	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	7-9	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

2.

(a) Cited documents

This report makes reference to the following documents:

D1: *Revue du Praticien*, 44(9), 1994, 1184-91

D2: *Mol. Cell. Endocrinol.*, 149(1-2), 197-206.

D2, two of whose authors have also been named as inventors, appears to correspond to the present invention.

(b) Novelty (PCT Article 32(2))

(i) None of the known prior art documents discloses blocking antibodies which bind specifically to the amino acid sequence 381-384 (FDSH or Phe-Asp-Ser-His) of the hTSH receptor.

(ii) The subject matter of **Claims 6-9**, which are directed to antibodies of this kind, can



therefore be considered novel. The same applies to the subject matter of **Claims 4-5**, which are directed to the use of these antibodies for the treatment of hyperthyreoses and endocrine orbitopathy.

(c) Inventive step (PCT Article 33(3))

- (i) Document D1 is considered to be the closest prior art. This document discloses the possibility that the sequence 365-383 of the hTSH receptor is specific for blocking antibodies (see page 1188, left voltage).
- (ii) The problem addressed by the present invention was to identify antibodies whose action goes beyond merely preventing stimulation of the thyroid by TSH or stimulating autoantibodies, and which are therefore suitable for the treatment of hyperthyreoses and endocrine orbitopathy.
- (iii) Antibodies of this kind have been identified in the present application. The application has also demonstrated (see page 20) that all these antibodies bind specifically to the amino acid sequence 381-384 (FDSH or Phe-Asp-Ser-His) of the hTSH receptor.
- (iv) Since it could not be foreseen from the available prior art documents that antibodies of this kind could be identified, the subject matter of **Claims 4-9** can be considered to involve an inventive



step.

(d) Industrial applicability (PCT Article 33(4))

(i) The subject matter of the present **Claims 7-9** appears to be industrially applicable.

(ii) The PCT Contracting States do not have uniform criteria for assessing the industrial applicability of **Claims 1-6** in their present form. Patentability may depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognise the industrial applicability of claims to the medical use of a compound; it does, however, allow claims to the first medical use of a known compound or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical application.

(e) P document

If the validity of the claimed priority could not be recognized, document D2 would have to be considered when examining the invention with regard to novelty and inventive step.



VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

3.

- (a) In the light of point 1, **Claims 1-3** do not satisfy the requirements of PCT Article 6.
- (b) Since the position of the amino acids "FDSH" (see point 2(c)(iii)) in the amino acid sequence of the hTSH receptor is not stated, the subject matter of Claims 4 and 7 likewise appears not to be clearly defined. The requirements of PCT Article 6 are not therefore satisfied.

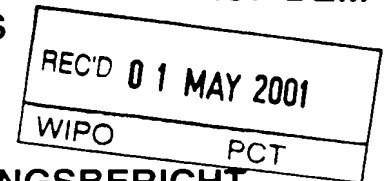


VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)





Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 3009 PCT	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/01304	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 18/02/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 19/02/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C07K16/28		
Anmelder B. R. A. H. M. S DIAGNOSTICA GMBH		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.

☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

 Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:
 - ☒ Grundlage des Berichts
 - ☐ Priorität
 - ☒ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
 - ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
 - ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
 - ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
 - ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
 - ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 24/08/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 26.04.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde.  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel: +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter Mennessier, T Tel. Nr. +49 89 2399 8687 



I. Grundlage des Berichts

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):
Beschreibung, Seiten:

1-22 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-9 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/3-3/3 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/01304

- ☐ Beschreibung, Seiten:
☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

III. Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit

1. Folgende Teile der Anmeldung wurden nicht daraufhin geprüft, ob die beanspruchte Erfindung als neu, auf erfinderischer Tätigkeit beruhend (nicht offensichtlich) und gewerblich anwendbar anzusehen ist:

- ☐ die gesamte internationale Anmeldung.
☒ Ansprüche Nr. 1-6.

Begründung:

- ☒ Die gesamte internationale Anmeldung, bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. 1-6 (in Hinsicht auf gewerbliche Anwendbarkeit) beziehen sich auf den nachstehenden Gegenstand, für den keine internationale vorläufige Prüfung durchgeführt werden braucht (*genaue Angaben*):
siehe Beiblatt
- ☒ Die Beschreibung, die Ansprüche oder die Zeichnungen (*machen Sie hierzu nachstehend genaue Angaben*) oder die obengenannten Ansprüche Nr. 1-3 sind so unklar, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte (*genaue Angaben*):
siehe Beiblatt
- ☒ Die Ansprüche bzw. die obengenannten Ansprüche Nr. 1-3 sind so unzureichend durch die Beschreibung gestützt, daß kein sinnvolles Gutachten erstellt werden konnte.
- ☐ Für die obengenannten Ansprüche Nr. wurde kein internationaler Recherchenbericht erstellt.

2. Eine sinnvolle internationale vorläufige Prüfung kann nicht durchgeführt werden, weil das Protokoll der Nukleotid- und/oder Aminosäuresequenzen nicht dem in Anlage C der Verwaltungsvorschriften vorgeschriebenen Standard entspricht:

- ☐ Die schriftliche Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.
☐ Die computerlesbare Form wurde nicht eingereicht bzw. entspricht nicht dem Standard.



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/01304

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	4-9
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	4-9
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	7-9
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:
siehe Beiblatt



1. Zur Sektion III

- a) Angesichts des untenstehenden Punkts 2.c.(iii) wird deutlich, daß folgendes Merkmal für die Definition der blockierenden Antikörper der Erfindung wesentlich ist:
 - # Alle diese Antikörper binden spezifisch an die Aminosäuresequenz 381-384 (FDSH bzw. Phe-Asp-Ser-His) des hTSH-Rezeptors (siehe Seite 20, Zeilen 16-19).
- b) Keine anderen für die Behandlung von Hyperthyreosen und der endokrinen Orbitopathie blockierenden Antikörper stehen dem Fachmann zur Verfügung. Identifizierung andere blockierende Antikörper scheint allein durch routinemäßiges Experimentieren oder Analysieren nicht möglich.
- c) Da die in **Ansprüchen 1-3** zitierten Antikörper auf dieses wesentliche technische Merkmal nicht hinweisen, sind diese Ansprüche unklar sowie nicht ausreichend durch die Beschreibung gestützt.
- d) **Die Ansprüche 1-6** beziehen sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieser Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34(4) a) (i) PCT).

2. Zur Sektion V

a) Zitierte Dokumente

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- # D1: *Revue du Praticien*, 44(9), 1994, 1184-91
- # D2: *Mol. Cell. Endocrinol.*, 149(1-2), 197-206

Dokument D2, zwei dessen Autoren auch als Erfinder genannt wurden, scheint der vorliegenden Anmeldung zu entsprechen.



b) Neuheit (Artikel 33(2) PCT)

- (i) Keines der Dokumente aus dem bekannten Stand der Technik offenbart blockierende Antikörper, die an die Aminosäuresequenz 381- 384 (FDSH bzw. Phe-Asp-Ser-His) des hTSH-Rezeptors spezifisch binden.
- (ii) Folglich kann der Gegenstand der **Ansprüche 6-9**, die auf solche Antikörper gerichtet sind als neu angesehen werden. Das gleiche gilt für den Gegenstand der **Ansprüche 4-5**, die auf die Verwendung dieser Antikörper zur Behandlung von Hyperthyreosen und der endokrinen Orbitopathie gerichtet sind.

c) Erfinderische Tätigkeit (Artikel 33(3) PCT)

- (i) Als nächster Stand-der-Technik wird Dokument D1 angesehen. Dieses Dokument offenbart, daß die Sequenz 365-383 des hTSH-Rezeptors für blockierende Antikörper spezifisch sein könnte (siehe Seite 1188, Links-Spannung).
- (ii) Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es Antikörper zu identifizieren, deren Wirkung über die reine Verhinderung der Stimulierung der Schilddrüse durch TSH bzw, stimulierende Autoantikörper hinausgeht, und die deswegen zur Behandlung von Hyperthyreosen und der endokrinen Orbitopathie geeignet sind.
- (iii) Solche Antikörper wurden in der vorliegenden Anmeldung identifiziert. Ferner (siehe Seite 20) wurde gezeigt, daß alle diese Antikörper an die Aminosäuresequenz 381-384 (FDSH bzw. Phe-Asp-Ser-His) des hTSH-Rezeptors spezifisch binden.
- (iv) Da aus den zur Verfügung stehenden Stand-der-Technik Dokumenten nicht vorherzusehen war, daß solche Antikörper identifiziert werden könnten, kann das Vorliegen einer Erfinderischen Tätigkeit für den Gegenstand von **Ansprüchen 4-9** anerkannt werden.



d) Gewerbliche Anwendbarkeit (Artikel 33(4) PCT)

- (i) Der Gegenstand der vorliegenden **Ansprüche 7-9** scheint gewerblich anwendbar zu sein.
- (ii) Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden **Ansprüche 1-6** gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

e) P-Dokument

Könnte die Gültigkeit der beanspruchten Priorität nicht anerkannt werden, müßte Dokument D2 für die Prüfung der Erfindung in Bezug auf Neuheit bzw. erfinderische Tätigkeit in Betracht bezogen werden.

3. Zur Sektion VIII

- a) Angesichts des Punkts 1 erfüllen **Ansprüche 1-3** nicht die Erfordernisse des Artikels 6 PCT.
- b) Da der Standort der Aminosäuren "FDSH" (siehe Punkt 2.c.(iii)) in der Aminosäuresequenz des hTSH-Rezeptors nicht angegeben wird, scheint auch der Gegenstand der Ansprüche 4 und 7 nicht deutlich definiert zu sein, dies im Widerspruch zu den Erfordernissen des Artikels 6 PCT.



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 3009 PCT	<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 33%; vertical-align: top;"> WEITERES VORGEHEN </td> <td style="width: 67%; vertical-align: top;"> siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5 </td> </tr> </table>		WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
WEITERES VORGEHEN	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5			
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 00/01304	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 18/02/2000	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 19/02/1999		
Anmelder B. R. A. H. M. S DIAGNOSTICA GMBH				

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.



Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.



Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das



in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.



zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.



Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2.



Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3.



Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. _____



wie vom Anmelder vorgeschlagen



weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.



weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



keine der Abb.



Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl die Ansprüche 1-6 sich auf eine Verwendung von Antikörpern zur therapeutischen Behandlung des menschlichen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Antikörper.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.



A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C07K16/28 A61K39/395

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C07K A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE, EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	ORGIAZZI J ET AL: "Thyroid-stimulating hormone receptor and thyroid diseases!. Recepteur de la thyreostimuline (TSH) et dysthyroidie." REVUE DU PRATICIEN, (1994 MAY 1) 44 (9) 1184-91. XP000944211 das ganze Dokument	1-9
A	NICHOLSON, L. B. ET AL: "Monoclonal antibodies to the human TSH receptor: epitope mapping and binding to the native receptor on the basolateral plasma membrane of thyroid follicular cells" J. MOL. ENDOCRINOL. (1996), 16(2), 159-170 XP000943987 das ganze Dokument	1-9

-/-



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung einer Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

8 Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

14. Dezember 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

08.01.01

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040 Tx 31 651 epo nl
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mennessier, T



C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	SEETHARAMAIAH, GATTADAHALLI S. ET AL: "Generation and characterization of monoclonal antibodies to the human thyrotropin (TSH) receptor: antibodies can bind to discrete conformational or linear epitopes and block TSH binding" ENDOCRINOLOGY (1995), 136(7), 2817-24 , XP000944028 das ganze Dokument ---	1-9
P,X	SHEPHERD, P. S. ET AL: "Identification of an important thyrotrophin binding site on the human thyrotrophin receptor using monoclonal antibodies" MOL. CELL. ENDOCRINOL. (1999 MARCH 25), 149(1-2), 197-206 , XP000944024 das ganze Dokument -----	1-9



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/EP 00/01304

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07K16/28 A61K39/395

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE, EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ORGIAZZI J ET AL: "'Thyroid-stimulating hormone receptor and thyroid diseases!. Recepteur de la thyreostimuline (TSH) et dysthyroidie." REVUE DU PRATICIEN, (1994 MAY 1) 44 (9) 1184-91. , XP000944211 the whole document	1-9
A	NICHOLSON, L. B. ET AL: "Monoclonal antibodies to the human TSH receptor: epitope mapping and binding to the native receptor on the basolateral plasma membrane of thyroid follicular cells" J. MOL. ENDOCRINOL. (1996), 16(2), 159-170 , XP000943987 the whole document	1-9



Further documents are listed in the continuation of box C



Patent family members are listed in annex

Special categories of cited documents

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance, the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *8* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 December 2000

Date of mailing of the international search report

08.01.01

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel (+31-70) 340-2040 Tx 31 651 epo nl
 Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mennessier, T



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/01304

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication where appropriate of the relevant passages	Relevant to claim No
A	SEETHARAMAIAH, GATTADAHALLI S. ET AL: "Generation and characterization of monoclonal antibodies to the human thyrotropin (TSH) receptor: antibodies can bind to discrete conformational or linear epitopes and block TSH binding" ENDOCRINOLOGY (1995), 136(7), 2817-24 , XP000944028 the whole document ----	1-9
P,X	SHEPHERD, P. S. ET AL: "Identification of an important thyrotrophin binding site on the human thyrotrophin receptor using monoclonal antibodies" MOL. CELL. ENDOCRINOL. (1999 MARCH 25), 149(1-2), 197-206 , XP000944024 the whole document -----	1-9



(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
24. August 2000 (24.08.2000)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/49050 A3

PCT

(51) Internationale Patentklassifikation: **C07K 16/28,**
A61K 39/395

JOHNSTONE, Alan, P. [GB/GB]; 55 Anne Boleyn's
Walk, Cheam, Surrey SM3 8DE (GB). **SHEPHERD,**
Philip, S. [GB/GB]; 187 Banstead Road, Carshalton
Beeches, Surrey SM5 4DP (GB).

(21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP00/01304**

(22) Internationales Anmeldedatum:
18. Februar 2000 (18.02.2000)

(74) Anwälte: **ANDRAE, Steffen** usw.; Andrae, Flach, Haug,
Balanstrasse 55, D-81541 München (DE).

(25) Einreichungssprache: **Deutsch**

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): **JP, US.**

(26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT,
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,
NL, PT, SE).

(30) Angaben zur Priorität:
199 07 094.6 19. Februar 1999 (19.02.1999) **DE**

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **B.R.A.H.M.S DIAGNOSTICA GMBH** [DE/DE];
Neuendorfstrasse 25, D-16761 Hennigsdorf (DE).

Veröffentlicht:

— Mit internationalem Recherchenbericht.

(72) Erfinder; und

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen
Recherchenberichts: **26. April 2001**

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **BERGMANN, An-**
dreas [DE/DE]; Baumläuferweg 47, D-12351 Berlin (DE).
STRUCK, Joachim [DE/DE]; Holsteinische Strasse 28,
D-12161 Berlin (DE). **MORGENTHALER, Nils, Ger-**
not [DE/DE]; Wenckebackstr. 4, D-12099 Berlin (DE).

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: **USE OF BLOCKING ANTI-TSH-RECEPTOR-ANTIBODIES IN THE THERAPY OF HYPERTHYREOSES AND
MONOCLONAL ANTIBODIES FOR A USE OF THIS TYPE**

(54) Bezeichnung: **VERWENDUNG VON BLOCKIERENDEN ANTI-TSH-REZEPTOR-ANTIKÖRPERN BEI DER THERA-
PIE VON HYPERTHYREOSEN SOWIE MONOKLONALE ANTIKÖRPER FÜR EINE SOLCHE VERWENDUNG**

(57) Abstract: The invention relates to the use of blocking antibodies which act against the human TSH-receptor (hTSH-receptor) or their specifically binding fragments for treating or for producing medicaments for treating hyperthyreoses caused by stimulating autoantibodies which act against the hTSH-receptor (Morbus Basedow) or by an overstimulation of the thyroid through endogenous TSH or by activating mutations of the hTSH-receptor; and for treating endocrinous orbitopathy. The invention also relates to special blocking monoclonal antibodies which recognise the minimal sequence FDSH corresponding to positions 381 to 384 of the human TSH-receptor.

(57) Zusammenfassung: Verwendung von blockierenden Antikörpern gegen den humanen TSH-Rezeptor (hTSH-Rezeptor) oder ihrer spezifisch bindenden Fragmente zur Behandlung von bzw. zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Hyperthyreosen, die auf stimulierende Autoantikörpern gegen den hTSH-Rezeptor (Morbus Basedow) oder eine Überstimulation der Schilddrüse durch endogenes TSH oder auf aktivierende Mutationen des hTSH-Rezeptors zurückzuführen sind, und zur Behandlung der endokrinen Orbitopathie, sowie spezielle blockierende monoklonale Antikörper, die die den Positionen 381 bis 384 des humanen TSH-Rezeptors entsprechende Minimalsequenz FDSH erkennen.



WO 00/49050 A3



1

2

3

4

5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No

PCT/EP 00/01304

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07K16/28 A61K39/395

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE, EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ORGIAZZI J ET AL: "Thyroid-stimulating hormone receptor and thyroid diseases!. Recepteur de la thyreostimuline (TSH) et dysthyroidie." REVUE DU PRATICIEN, (1994 MAY 1) 44 (9) 1184-91. XP000944211 the whole document	1-9
A	NICHOLSON, L. B. ET AL: "Monoclonal antibodies to the human TSH receptor: epitope mapping and binding to the native receptor on the basolateral plasma membrane of thyroid follicular cells" J. MOL. ENDOCRINOL. (1996), 16(2), 159-170 XP000943987 the whole document	1-9

-/--



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 December 2000

Date of mailing of the international search report

08.01.01

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mennessier, T

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Intern. Application No

PCT/EP 00/01304

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	SEETHARAMAIAH, GATTADAHALLI S. ET AL: "Generation and characterization of monoclonal antibodies to the human thyrotropin (TSH) receptor: antibodies can bind to discrete conformational or linear epitopes and block TSH binding" ENDOCRINOLOGY (1995), 136(7), 2817-24 , XP000944028 the whole document ---	1-9
P,X	SHEPHERD, P. S. ET AL: "Identification of an important thyrotrophin binding site on the human thyrotrophin receptor using monoclonal antibodies" MOL. CELL. ENDOCRINOL. (1999 MARCH 25), 149(1-2), 197-206 , XP000944024 the whole document -----	1-9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 00/01304

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claim nos. 1-6 relate to a use of antibodies for the treatment of the human body by therapy, the search was carried out and was based on the cited effects of said antibodies.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐
☐

The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.

No protest accompanied the payment of additional search fees.



INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. Aktenzeichen

PCT/EP 00/01304

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
 IPK 7 C07K16/28 A61K39/395

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C07K A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehorende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE, EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	ORGIAZZI J ET AL: "Thyroid-stimulating hormone receptor and thyroid diseases!. Recepteur de la thyreostimuline (TSH) et dysthyroidie." REVUE DU PRATICIEN, (1994 MAY 1) 44 (9) 1184-91. XP000944211 das ganze Dokument	1-9
A	NICHOLSON, L. B. ET AL: "Monoclonal antibodies to the human TSH receptor: epitope mapping and binding to the native receptor on the basolateral plasma membrane of thyroid follicular cells" J. MOL. ENDOCRINOL. (1996), 16(2), 159-170 XP000943987 das ganze Dokument	1-9

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☐ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nahelegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

14. Dezember 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

08.01.01

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl.
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Mennessier, T

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern. nales Aktenzeichen

PCT/EP 00/01304

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	SEETHARAMAIAH, GATTADAHALLI S. ET AL: "Generation and characterization of monoclonal antibodies to the human thyrotropin (TSH) receptor: antibodies can bind to discrete conformational or linear epitopes and block TSH binding" ENDOCRINOLOGY (1995), 136(7), 2817-24 , XP000944028 das ganze Dokument	1-9
P,X	SHEPHERD, P. S. ET AL: "Identification of an important thyrotrophin binding site on the human thyrotrophin receptor using monoclonal antibodies" MOL. CELL. ENDOCRINOL. (1999 MARCH 25), 149(1-2), 197-206 , XP000944024 das ganze Dokument	1-9

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 00/01304

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
Obwohl die Ansprüche 1-6 sich auf eine Verwendung von Antikörpern zur therapeutischen Behandlung des menschlichen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Antikörper.
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.



,

,

,

,

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁷ : C07K 16/28, A61K 39/395		A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/49050
			(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 24. August 2000 (24.08.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00 01304		(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(22) Internationales Anmeldedatum: 18. Februar 2000 (18.02.00)			
(30) Prioritätsdaten: 199 07 094.6 19. Februar 1999 (19.02.99) DE		Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>	
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): B.R.A.H.M.S DIAGNOSTICA GMBH [DE/DE]; Neuen- dorfstrasse 25, D-16761 Hennigsdorf (DE).			
(72) Erfinder; und			
(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BERGMANN, Andreas [DE/DE]; Baumläuferweg 47, D-12351 Berlin (DE). STRUCK, Joachim [DE/DE]; Holsteinische Strasse 28, D-12161 Berlin (DE). MORGENTHALER, Nils, Gemot [DE/DE]; Wenckebachstr. 4, D-12099 Berlin (DE). JOHNSTONE, Alan, P. [GB/GB]; 55 Anne Boleyn's Walk, Cheam, Surrey SM3 8DE (GB). SHEPHERD, Philip, S. [GB/GB]; 187 Banstead Road, Carshalton, Surrey (GB).			
(74) Anwälte: ANDRAE, Steffen usw.; Andrae, Flach, Haug, Balanstrasse 55, D-81541 München (DE).			
(54) Title: USE OF BLOCKING ANTI-TSH-RECEPTOR-ANTIBODIES IN THE THERAPY OF HYPERTHYREOSES AND MONO- CLONAL ANTIBODIES FOR A USE OF THIS TYPE			
(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON BLOCKIERENDEN ANTI-TSH-REZEPTOR-ANTIKÖRPERN BEI DER THERAPIE VON HYPERTHYREOSEN SOWIE MONOKLONALE ANTIKÖRPER FÜR EINE SOLCHE VERWENDUNG			
(57) Abstract <p>The invention relates to the use of blocking antibodies which act against the human TSH-receptor (hTSH-receptor) or their specifically binding fragments for treating or for producing medicaments for treating hyperthyreoses caused by stimulating autoantibodies which act against the hTSH-receptor (Morbus Basedow) or by an overstimulation of the thyroid through endogenous TSH or by activating mutations of the hTSH-receptor; and for treating endocrinous orbitopathy. The invention also relates to special blocking monoclonal antibodies which recognise the minimal sequence FDSH corresponding to positions 381 to 384 of the human TSH-receptor.</p>			
(57) Zusammenfassung <p>Verwendung von blockierenden Antikörpern gegen den humanen TSH-Rezeptor (hTSH-Rezeptor) oder ihrer spezifisch bindenden Fragmente zur Behandlung von bzw. zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Hyperthyreosen, die auf stimulierende Autoantikörpern gegen den hTSH-Rezeptor (Morbus Basedow) oder eine Überstimulation der Schilddrüse durch endogenes TSH oder auf aktivierende Mutationen des hTSH-Rezeptors zurückzuführen sind, und zur Behandlung der endokrinen Orbitopathie, sowie spezielle blockierende monoklonale Antikörper, die die den Positionen 381 bis 384 des humanen TSH-Rezeptors entsprechende Minimalsequenz FDSH erkennen.</p>			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidsehan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland			TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	NZ	Neuseeland		
CM	Kamerun			PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

5

10

**Verwendung von blockierenden Anti-TSH-Rezeptor-Antikörpern
bei der Therapie von Hyperthyreosen sowie monoklonale Anti-
körper für eine solche Verwendung**

15

Die vorliegende Erfindung betrifft die Verwendung von blockierenden Anti-TSH-Rezeptor-Antikörpern im Rahmen der Therapie von Hyperthyreosen wie Morbus Basedow, d.h. zur Behandlung bzw. zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung derartiger Erkrankungen, sowie für eine solche Verwendung besonders gut geeignete monoklonale Antikörper.

20

25

Es ist bekannt, daß zahlreiche Erkrankungen, an denen die Schilddrüse beteiligt ist, Autoimmunerkrankungen sind, bei denen Autoantikörper gegen molekulare Strukturen der Schilddrüse gebildet werden, die im Zusammenhang mit der Erkrankung beginnen, als Autoantigene zu wirken. Die wichtigsten bekannten Autoantigene der Schilddrüse sind dabei Thyreoglobulin (Tg), die Schilddrüsenperoxidase (TPO) und insbesondere der TSH-Rezeptor (TSHr) (vgl. Furmaniak J et al., Autoimmunity 1990, Vol. 7, S. 63-80).

30

Der TSH-Rezeptor ist ein in der Schilddrüsenmembran lokalisierter Rezeptor, an den das von der Hypophyse ausgeschüttete Hormon TSH (Thyroid-stimulierendes Hormon oder Thyreotropin) bindet und dadurch die Ausschüttung der eigentlichen

- 2 -

Schilddrüsenhormone, insbesondere des Thyroxins, auslöst. Der TSH-Rezeptor gehört zur Rezeptor-Familie der G-Protein-gekoppelten Glykoprotein-Rezeptoren mit einer großen aminoterminalen extrazellulären Domäne, zu der auch der LH/CG- und der FSH-Rezeptor gehören. Eine Aufklärung der chemischen Struktur des TSH-Rezeptors, d.h. der Sequenz der für ihn codierenden DNA sowie der daraus ableitbaren Aminosäuresequenz des Rezeptors selbst, gelang Ende 1989 (vgl. Libert F. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 165: 1250-1255; Nagayama Y. et al., Biochem. Biophys. Res. Commun. 165: 1184-1190; vgl. auch EP-A-0433509 bzw. WO-A-91/09121; sowie WO-A-91/09137; WO-A-91/10735 und WO-A-91/03483; ferner Yuji Nagayama & Basil Rapoport, in: Molecular Endocrinology, Vol. 6 No. 2, S. 145-156 und die darin zitierte Literatur).

Wegen der Ausbildung von Autoantikörpern gegen der TSH-Rezeptor (auch generell abgekürzt TRAb) im Rahmen von verschiedenen Schilddrüsen-Autoimmunerkrankungen hat die Bestimmung von derartigen Autoantikörpern eine erhebliche klinische Bedeutung, insbesondere für die Diagnose des Morbus Basedow (Basedow Krankheit; englisch: Graves' disease).

Abgesehen von Bestimmungsverfahren, bei denen Versuchstiere oder spezielle Zellkulturen eine Rolle spielen und die heute vor allem von historischem Interesse sind (vgl. Schumm-Draeger et al., Akt. Endokr. Stoffw. 10 (1989), S. 90-102)), können TSH-Rezeptor-Autoantikörper bisher im wesentlichen nach zwei Verfahrensprinzipien bestimmt werden (vgl. Morgenthaler N.G. et al., Horm. Metab. Res. 30 (1998), S. 162-168):

Bei Zellstimulationstests äußert sich die Anwesenheit von stimulierenden TSH-Rezeptor-Autoantikörpern, die in der Literatur häufig mit den Abkürzungen TSAb oder TSI (TSI = thyroid stimulating immunoglobulins) bezeichnet werden, dadurch, daß bestimmte Funktionen von geeigneten Zellen, die

in ihrer Zellmembran natürliche oder rekombinante TSH-Rezeptoren aufweisen und mit TSH und/oder einer Autoantikörper enthaltenden Probe in Kontakt kommen, durch Stimulation ausgelöst oder verstärkt werden, insbesondere die Bildung von cAMP (cyclischem Adenosinmonophosphat). Blockierende TSH-Rezeptor-Antikörper (TBAb) können an der Abschwächung der Wirkung von TSH erkannt werden. Da derartige Bioassays in ihrer Durchführung sehr aufwendig sind, liegt ihre Bedeutung derzeit weniger auf dem Gebiet der klinischen Routinediagnostik als auf dem der Grundlagenforschung. Sie stellen ein wertvolles Hilfsmittel zur Aufklärung der genauen Art der Wechselwirkung zwischen Antikörpern und der funktionellen Feinstruktur des TSH-Rezeptors dar. So wird in der Veröffentlichung von N.G. Morgenthaler et al. in Horm. Metab. Res. 30 (1998), S. 162-163 beschrieben, wie bestimmte CHO-Zellen, die so transformiert wurden, daß sie den vollständigen rekombinanten TSH-Rezeptor exprimieren und die als JP09 CHO-Zellen bezeichnet werden (Perret J et al., Biochem Biophys Res Commun 1990; 171:1044-50), erfolgreich dazu verwendet werden können, in unfraktionierten Seren oder daraus durch Reinigung erhältlichen IgG-Fractionen stimulierende (TSAb) und/oder blockierende Autoantikörper (TBAb) nachzuweisen und voneinander zu unterscheiden bzw. deren Auftreten und ihre relativen Anteile in einer biologischen Probe zu ermitteln. Auf die in der genannten Veröffentlichung beschriebene Methodik wird nachfolgend im experimentellen Teil Bezug genommen, und auf den gesamten Inhalt dieser Veröffentlichung sowie die darin als Literaturzitate genannten weiteren Veröffentlichungen wird zur Ergänzung der vorliegenden Beschreibung sowie als weiterführende vertiefende Literatur ausdrücklich Bezug genommen.

Alternativ dazu können TSH-Rezeptor-Autoantikörper (TRAb) auch unter Verwendung von kompetitiven Rezeptorbindungsassays, insbesondere Radiorezeptorassays, bestimmt werden, z.B. unter Verwendung des TRAK Assay[®] der B.R.A.H.M.S Diagnostica GmbH. Zur Bestimmung von TSH-Rezeptor-Autoantikörpern

pern wird nach der herkömmlichen Variante dieses Verfahrens so vorgegangen, daß man die zu bestimmenden Autoantikörper aus einer Serumprobe in flüssiger Phase mit einem radioaktiv markierten bovinen TSH-Kompetitor um die Bindungsstellen eines Detergens-solubilisierten porcinen TSH-Rezeptors konkurrieren läßt (vgl. Southgate, K. et al., Clin. Endocrinol. (Oxford) 20, 539-541 (1984); Matsuba T. et al., J.Biochem. 118, S.265-270 (1995); EP 719 858 A2; Produktinformation zum TRAK-Assay® der Firma B.R.A.H.M.S Diagnostica GmbH). Um das an die Rezeptor-Präparation gebundene markierte TSH zu bestimmen, wird nach Abschluß der Inkubation der TSH-Rezeptor mit einem Fällungsreagens und einem anschließenden Zentrifugierschritt von der flüssigen Phase abgetrennt. Die Bestimmung des Rezeptor-gebundenen markierten TSH erfolgt durch Messung der im Sediment gebundenen Radioaktivität. Da die Bestimmung auf einer Konkurrenz (Kompetition) zwischen markiertem TSH und den zu bestimmenden Autoantikörpern um gemeinsame Bindungsstellen auf dem TSH-Rezeptor beruht, werden bei diesem Verfahren alle solchen und nur solche Autoantikörper erfaßt, die tatsächlich mit TSH kompetieren. Solche kompetierenden, zur Inhibierung der TSH-Bindung befähigten Autoantikörper werden in der Literatur auch als TBII (TBII = thyrotropin-binding inhibitory immunoglobulin) bezeichnet, und das Ausmaß ihrer Aktivität wird auch als prozentuale sogenannte TBII-Aktivität angegeben.

Es ist nunmehr seit längerem bekannt, daß bei Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse heterogene Autoantikörperpopulationen unterschiedlicher Zusammensetzung gebildet werden. Dabei sind die stimulierenden und die mit TSH kompetierenden Autoantikörper nur teilweise identisch, d.h. es gibt stimulierende Autoantikörper, die nicht mit TSH kompetieren, und es gibt auch mit TSH kompetierende Autoantikörper, die nicht stimulierend wirken. Die Heterogenität der Autoantikörperpopulationen führte dazu, daß mit den früheren Radiorezeptorassays zum Nachweis von Autoantikörpern gegen den TSH-Rezeptor derartige Autoantikörper nur bei 80-90% der Morbus

Basedow Patienten nachweisbar waren. Erst mit den moderneren Rezeptorbindungsassays der sog. "zweiten Generation", bei denen anstelle porciner TSH-Rezeptor-Präparationen Präparationen von geeigneten rekombinanten humanen TSH-Rezeptoren sowie selektive monoklonale Antikörper zu ihrer Immobilisierung verwendet werden, werden Autoantikörper bei im wesentlichen alle Patienten korrekt nachgewiesen (S. Costagliola et al., J. Clin. Endocrinol Metab 84:90-97, 1999).

Es ist allgemein bekannt, daß bei der als Morbus Basedow (englisch: Graves' disease) bekannten Schilddrüsen-Autoimmunerkrankung stimulierende Autoantikörper (TSAb) eine Rolle spielen, die gegen der TSH-Rezeptor gebildet werden und mit diesem so wechselwirken, daß die Schilddrüse stimuliert wird, was sich als Schilddrüsenüberfunktion (Hyperthyreose) äußert. Ein charakteristisches klinisches Begleitsymptom des Morbus Basedow, das nicht unmittelbar auf die Hyperthyreose zurückzuführen ist, ist der sogenannte Exophthalmus ("Glotzauge"; endokrine Orbitopathie oder Ophthalmopathie oder EO; englisch: Graves' ophthalmopathy oder GO). Die klinischen Folgen dieser Begleiterkrankung reichen von eher kosmetischen Störungen (Glotzaugen) bis zum Verlust der Sehfähigkeit. Eine als gut begründbar angesehene und daher gegenwärtig intensiv untersuchte Annahme geht davon aus, daß die für die Stimulation der Schilddrüse verantwortlichen krankheitstypischen Autoantikörper auch an TSH-Rezeptoren oder Varianten oder Fragmente davon binden, die im retro-okularen Gewebe nachgewiesen werden konnten, was über komplexe Zusammenhänge zu einer immunogenen Entzündung des Augen-Muskelgewebes und zu dem typischen Krankheitsbild einer EO führen könnte (vgl. z.B. A.P. Weetman, Molecular and Cellular Endocrinology 126 (1997) 113-116).

Es sind ferner Fälle von Hyperthyreose bekannt, die mit aktivierenden Mutationen des TSH-Rezeptors in Verbindung gebracht werden (vgl. Thyroid, Vol. 8, 1998, 559-564 und die darin zitierte einschlägige Literatur), insbesondere beim

sogenannten autonomen Schilddrüsen-Adenom.

Zur Therapie des Morbus Basedow stehen derzeit drei auf unterschiedlichen Prinzipien beruhende Behandlungsmöglichkeiten zur Verfügung:

- a) medikamentöse Behandlung mit Thioharnstoffderivaten (z.B. Carbimazol (INN), Methimazol (Thiamazol; INN));
- b) teilweise Zerstörung von Schilddrüsengewebe durch Gabe von radioaktivem Jod, und
- c) chirurgische Entfernung des Schilddrüsengewebes.

In Deutschland, vielen Ländern Europas sowie Japan ist die medikamentöse Therapie gemäß a) beim erstmaligen Auftreten des Morbus Basedow die Regeltherapie. In speziellen Situationen (z.B. große Struma, zusätzlicher Verdacht auf Autonomie) kann auch sofort auf eine der sogenannten definitiven Therapien nach b) oder c) zurückgegriffen werden. In den USA ist eine solche Therapie nach b) und c) aus historischen Gründen eher die Regel, und es werden nur sehr wenige Patienten (< 20%) medikamentös gemäß a) therapiert.

Die medikamentöse Therapie hat Vor- und Nachteile. Der Vorteil ist, daß der Patient durch die befristete Gabe von Medikamenten in einen Zustand gebracht werden kann, in dem die Schilddrüsenfunktion normalisiert ist (Euthyreose), und der Morbus Basedow tritt in eine sogenannte Remission ein. Im günstigsten Falle benötigt der Patient nach einiger Zeit keine weitere Medikation, hat jedoch noch immer eine voll funktionsfähige Schilddrüse, was eine Substitutionstherapie mit Schilddrüsenhormonen, wie sie nach den definitiven Therapien gemäß b) und c) erforderlich ist, überflüssig macht.

Diese sogenannten definitiven Therapien führen in den mei-

sten Fällen dazu, daß keine voll funktionsfähige Schilddrüse mehr vorhanden ist, und zum Ausgleich der dadurch hervorgerufenen Hypothyreose ist eine oft lebenslange Substitutionstherapie mit Schilddrüsenhormonen notwendig.

Ein wesentliches Problem der Entscheidung für die richtige Therapie ist der zu erwartende Erfolg. Prinzipiell können bei allen drei genannten derzeit bekannten Therapieformen Erfolge erzielt werden, d.h. die Remission der Erkrankung kann für sehr lange, vielleicht sogar für immer, erreicht sein. Bei einem Erfolg der Therapie gemäß a) wären dann keinerlei zusätzliche therapeutische Maßnahmen mehr notwendig. Im Falle von b) und c) müssen jedoch meist die fehlenden Schilddrüsenhormone medikamentös von außen zugeführt werden.

Ein gemeinsames Problem aller Therapieformen ist jedoch, daß es mehr oder weniger häufig zu sogenannten Rezidiven kommt. Das heißt, nach einer gewissen Zeit nach der vermeintlich erfolgreichen Therapie bricht die Erkrankung erneut aus, was neuerliche therapeutische Eingriffe notwendig macht. Obwohl derartige Rezidive bei allen drei Therapieformen vorkommen können, ist die medikamentöse Therapie gemäß a) davon am häufigsten betroffen. So können nur ca. 50% aller Morbus Basedow-Patienten durch eine ein- bis zweijährige Gabe von Medikamenten (Tabletten) für eine lange Folgeperiode in Remission gebracht werden.

Die wegen Erhaltung der Schilddrüse an sich zu bevorzugende Therapie mit Medikamenten hat zusätzliche Nachteile. Zum einen tritt die Wirkung der Medikamente nur mit einer zeitlichen Verzögerung auf, da sie im wesentlichen die Neusynthese von Hormonen hemmen, nicht jedoch die Freisetzung von bereits in der Schilddrüse gebildeten und gespeicherten Hormonen. Es dauert somit ein bis zwei Wochen, bis eine Wirkung der Medikamente zu erkennen ist. Bei hochgradig kranken Patienten (thyreotoxische Krise) kann das dazu

führen, daß die Behandlung versagt. Ähnlich verhält es sich mit der Gabe von Radiojod. Auch hier setzt der therapeutische Effekt nur verzögert ein.

5 Zusätzlich kommt es in wenigen seltenen Fällen bei der medikamentösen Behandlung zu Nebenwirkungen, die ein sofortiges Absetzen der Medikamente erfordern (Agranulozytose). Bleibt der Patient dann noch hyperthyreot, was in der Regel der Fall ist, gibt es nur noch wenige therapeutische Möglichkeiten. Durch die Nebenwirkung der Agranulozytose (kompletter Verlust der weißen Blutzellen) ist er außerordentlich infektionsgefährdet und nur bedingt operationsfähig. Ein Rückgriff auf die alternativen Therapieansätze b) und c) scheidet daher in der Regel aus. Es besteht somit grundsätzlich ein Bedarf nach weiteren therapeutischen Behandlungsmöglichkeiten des Morbus Basedow, insbesondere nach solchen, die eine Chance bieten, die Schilddrüse zu erhalten und das Krankheitsgeschehen ursächlich zu beeinflussen.

20 Durch die Verwendung von blockierenden Antikörpern gegen den TSH-Rezeptor gemäß den Patentansprüchen 1 bis 6 wird eine derartige weitere Therapiemöglichkeit geschaffen, die sich neben den bisherigen therapeutischen Behandlungen als vierte Therapieform etablieren könnte und erhebliche Vorteile
25 bieten kann, auf die weiter unten noch näher eingegangen wird.

30 Eine derartige Therapie wird dadurch ermöglicht, daß selektiv blockierende Antikörper gegen den TSH-Rezeptor in Form monoklonaler Antikörper hergestellt werden konnten und gezeigt werden konnte, daß diese Antikörper tatsächlich den stimulierenden Effekt von Schilddrüsen-stimulierenden Autoantikörpern (TSAb) aufheben können.

35 Die vorliegende Erfindung betrifft daher gemäß den Ansprüchen 7 bis 9 auch derartige monoklonale blockierende Antikörper, für die eine Herstellungsmöglichkeit sowie eine

- 9 -

Selektionsmöglichkeit nachfolgend im experimentellen Teil beschrieben wird und die vorsorglich zusätzlich durch Hinterlegung unter den Bezeichnungen 4E9/E2/C1 (DSM ACC2389); 4C1/E1/G8 (DSM ACC2390); 1B1/E10/B11/C12 (DSM ACC2391); 7E3/F8/E3 (DSM ACC2392); 3H10/A11/A1 (DSM ACC2393) am 19.2.1999 bei DSMZ, Braunschweig durch Hinterlegung nach den Bestimmungen des Budapester Vertrags der Öffentlichkeit zugänglich gemacht wurden.

10 An den TSH-Rezeptor bindende blockierende Antikörper können in Form monoklonaler Antikörper nach der im experimentellen Teil beschriebenen Arbeitsweise erzeugt und selektiert werden, insbesondere nachdem die relativ kurze Aminosäuresequenz der extrazellulären Domäne des TSH-Rezeptors identifiziert wurde, an die derartige blockierende Antikörper bzw. bestimmte, sehr wirksame derartige Antikörper binden.

20 Wie ebenfalls im experimentellen Teil näher beschrieben wird, konnte gezeigt werden, daß im eingangs charakterisierten Bioassay unter Verwendung von JP09CHO-Zellen die gleichzeitige Zugabe von derartigen monoklonalen Antikörpern die Stimulation dieser Zellen durch TSH, erkennbar an der cAMP-Bildung, selektiv unterdrücken kann.

25 Das gleiche gilt für den Fall, daß die Stimulation der genannten Zellen im Bioassay nicht mit TSH erfolgt, sondern durch Zugabe von Seren von Morbus Basedow-Patienten mit einem hohen Titer an stimulierenden Autoantikörpern (TSAb).

30 Die Verfügbarkeit derartiger selektiver blockierender Antikörper gegen den TSH-Rezeptor ermöglicht es, eine neuartige Therapie des Morbus Basedow ins Auge zu fassen, die durch die Verwendung derartiger blockierender Antikörper bzw. die Verwendung derartiger Antikörper zur Herstellung von Arzneimitteln und die Verabreichung derartiger Arzneimittel, üblicherweise per Injektion oder Infusion, gekennzeichnet ist.

Als Vorteile einer derartigen Therapie mit blockierenden Antikörpern können genannt werden:

- 5 a) Es ist zu erwarten, daß durch die Verabreichung der blockierenden Antikörper, die schnell und mit hoher Effizienz an den TSH-Rezeptor binden und diesen blockieren, eine rasche Hemmung der Stimulation des TSH-Rezeptors erreichbar ist.
- 10 b) Die Therapie des Morbus Basedow erfolgt direkt am Wirkungsort der Erkrankung und ist somit als eine ursächliche Therapie anzusehen.
- 15 c) Die Therapie mit den Antikörpern kann auch bei schwerkranken Patienten angewandt werden, bei denen die bisher bekannten Therapieformen versagen, ohne daß die in solchen Fällen gegen die bekannten Therapieformen bestehenden Bedenken zum Tragen kommen.
- 20 d) Da durch die blockierenden Antikörper das Zielorgan des autoimmunen Angriffs ruhiggestellt werden kann, erscheint in Analogie zu Beobachtungen von Beeinflussungsmöglichkeiten autoimmuner Prozesse bei anderen Organen eine Abschwächung des autoimmunen Prozesses im
25 Bereich der Möglichkeiten.
- 30 e) Ähnlich wie bei der medikamentösen Behandlung kann die Therapie zeitlich begrenzt mit der Option auf vollständige Remission und Erhaltung des Organs durchgeführt werden.

Vom Wirkungsprinzip her sind keine gravierenden Nebenwirkungen zu erwarten.

- 35 Die obigen Vorteile sollen noch etwas ausführlicher erläutert werden.

Ein therapeutischer Ansatz unter Verwendung von Antikörpern, die den TSH-Rezeptor blockieren, verspricht einen unmittelbaren Therapieerfolg ohne die zeitlichen Verzögerungen, die bei der Verabreichung von Medikamenten bzw. Radiojod beobachtet werden. Die Gabe von blockierenden Antikörpern erscheint auch möglich, wenn eine sofortige Operation eines hypothyreoten Patienten nicht in Frage kommt. Sie kann daher zur einzigen Option für eine schnelle Normalisierung der Stoffwechsellaage werden.

In den seltenen Fällen, bei denen es bei der medikamentösen Therapie zu einer Agranulozytose kommt und derzeit keine weiteren therapeutischen Eingriffsmöglichkeiten mehr existieren, kann der Einsatz von blockierenden Antikörpern eine neue, unter Umständen lebensrettende Behandlungsalternative darstellen.

Da bei Morbus Basedow die Einwirkung von stimulierenden Autoantikörpern auf den TSH-Rezeptor für das Entstehen der meisten klinischen Symptome ursächlich verantwortlich ist, wird durch die therapeutische Verabreichung von blockierenden Antikörpern, die mit diesen krankmachenden stimulierenden Autoantikörpern konkurrieren, die einmalige Chance eröffnet, das Krankheitsgeschehen direkt am Krankheitsort ursächlich zu bekämpfen. Eine derartige Vorgehensweise mit einer therapeutischen Intervention dort, wo eine Krankheit ihren Ursprung hat, ist nur sehr selten möglich.

Ein weiterer Vorteil besteht in der zu erwartenden Möglichkeit, daß die Therapie mit blockierenden Antikörpern nur zeitlich begrenzt durchgeführt werden muß, und daß nach Abschluß der Therapie die Schilddrüse erhalten bleibt. Es ist bekannt, daß der Autoimmunprozeß in vielen Fällen von Morbus Basedow-Erkrankungen zeitlich begrenzt ist, d.h. daß die Krankheit in vielen Fällen nach einiger Zeit abklingt. Die Verabreichung von blockierenden Antikörpern ermöglicht die Überbrückung der akuten Krankheitsphase mit klinisch

relevanten Symptomen, ist also ähnlich wie die derzeitige medikamentöse Therapie von vorübergehendem Charakter.

5 Es besteht darüber hinaus Grund zu der Hoffnung, daß die Zufuhr von blockierenden Antikörpern immunmodulatorisch wirkt und zu einer Abschwächung oder sogar Heilung des Autoimmunprozesses führen kann. Durch die Blockierung der Wirkung der krankmachenden stimulierenden Antikörper sowie auch die Blockierung des physiologischen TSH kommt es zu 10 einer vollständigen Stilllegung der Schilddrüse. Eine derartige Stilllegung der Schilddrüse, bei der deren Stoffwechsel stark vermindert wird, führt zu einer verminderten Expression von Antigenen oder MHCII-Molekülen, was wiederum zu einer verminderten Stimulation des Immunsystems und einer 15 Abschwächung der Immunantwort führen kann.

Daß eine derartige Hoffnung vernünftig ist, ergibt sich aus Beobachtungen, die bei anderen Autoimmunerkrankungen gemacht werden konnten. So konnte im Falle der Autoimmunerkrankung 20 des Diabetes mellitus Typ I gezeigt werden, daß die frühe Gabe von Insulin, die dazu führt, daß die körpereigene Insulinproduktion herabgesetzt werden kann, bei einer Gruppe von Patienten mit relativ langsamem Krankheitsverlauf vorteilhaft ist (vgl. Kobayashi et al., Diabetes 45, 622 25 (1996)). Die frühe Insulingabe führt zu einer Schonung der Insulin produzierenden Zellen der Langerhansschen Inseln, die weniger aktiv sind und weniger rasch durch den Autoimmunangriff zerstört werden und somit länger körpereigenes Insulin produzieren können. Es kann angenommen werden, daß 30 eine Stilllegung der Schilddrüse mittels blockierender Antikörper ähnliche positive Wirkungen haben kann.

35 Ferner besteht die begründete Hoffnung, daß die Gabe der blockierenden Antikörper auch die immunogene Entzündung direkt positiv beeinflussen kann, die für das Begleitsymptom des Morbus Basedow, die endokrine Orbitopathie (EO), verantwortlich ist. Bisher kann die EO nicht kausal therapiert

werden. Neben rein symptomatischen Behandlungen mit z.B. getönten Augengläsern, Augentropfen kommen in schwereren Fällen aggressivere Behandlungen zur Anwendung, und zwar in Form einer medikamentösen Therapie mit Glucocorticoiden, einer Hochvoltbestrahlung der Orbita (Augenhöhle) oder einer operativen Dekompression der Orbita. Die Behandlungserfolge der o.g. Therapien sind jedoch unbefriedigend. Bevor eine solche Therapie überhaupt zur Anwendung kommen kann, sollte der Patient jedoch in jedem Falle euthyreot sein. Die Herstellung einer euthyreoten Stoffwechsellage durch blockierende Antikörper gemäß der vorliegenden Erfindung unterstützt daher auch die Therapie einer EO, und die frühe Verabreichung von solchen Antikörpern an Morbus Basedow Patienten könnte auch eine präventive Wirkung auf die Entwicklung der Augensymptomatik einer EO haben.

Die blockierenden Antikörper können ferner auch zur Behandlung von bestimmten Hyperthyreosen eingesetzt werden, die nicht, wie beim Morbus Basedow, auf eine Stimulation der Schilddrüse durch Autoantikörper zurückzuführen sind, sondern auf eine Überstimulation der Schilddrüse durch TSH. Zu nennen ist hierbei z.B. eine Hypophysenüberfunktion mit erhöhter TSH-Ausschüttung aufgrund eines Hypophysenadenoms.

Ferner erscheint auch die Behandlung einer Hyperthyreose, die mit aktivierenden Mutationen des TSH in Verbindung zu bringen ist, mit den erfindungsgemäß zu verwendenden blockierenden Antikörpern vielversprechend. Hierbei ist v.a. die Beobachtung von Bedeutung, daß die blockierenden Antikörper nicht nur die Schilddrüsenfunktion in Gegenwart stimulierender Autoantikörper vermindern, sondern auch bei Normalpersonen eine Herabsetzung der Schilddrüsenfunktion beobachtet wird (vgl. Fig.2 der vorliegenden Anmeldung, insbesondere die Werte für die Kontrollen in Gegenwart der Antikörper 7E3 und 3H10 im Vergleich zu der Kontrolle ohne Antikörper bzw. die Werte für die Normalseren in Fig.3).

Besondere Bedenken gegen eine Therapie mit blockierenden Antikörpern bestehen nicht. Zu Therapien mit Antikörpern, die prinzipiell als natürliche Substanzen anzusehen sind, existieren es umfangreiche klinische Erfahrungen. Es ist ferner bekannt, daß blockierende Antikörper, wie sie im Rahmen der neuartigen Therapie verwendet werden sollen, bei vielen Morbus Basedow-Patienten vorkommen, ohne daß das Vorkommen derartiger blockierender Antikörper mit irgendwelchen gesundheitsschädlichen Auswirkungen korreliert werden kann.

Die blockierenden Antikörper, deren Herstellung und Eigenschaften im experimentellen Teil gezeigt werden, sind aufgrund der zur Anwendung kommenden Hybridomtechnik keine menschlichen Antikörper sondern tierische (Maus) Antikörper. Diese können normalerweise nicht unmittelbar zur Therapie in der Humanmedizin verwendet werden. Es gehört jedoch heutzutage zu den etablierten Techniken, derartige tierische Antikörper für eine Verwendung in der Humanmedizin zu "humanisieren" (vgl. z.B. B.R.Glick, J.J.Pasternak, Molekulare Biotechnologie, Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, Berlin, Oxford, 1995, S. 243 ff). Dabei werden die variablen Fv-Fragmente der tierischen Antikörper mit den konstanten Domänen und Fc-Fragmenten von humanen Antikörpern gekoppelt, was dazu führt, daß derartige humanisierte (vermenschlichte oder chimäre) Antikörper vom menschlichen Immunsystem nicht mehr als artfremde Strukturen erkannt und angegriffen werden.

Die blockierenden Antikörper, deren Gewinnung und Herstellung im experimentellen Teil gezeigt wird und mit denen nachgewiesen wurde, daß diese die Wirkungen von TSH und stimulierenden Antikörpern (TSAb) aufheben können, sind blockierende monoklonale Antikörper mit bestimmten Eigenschaften. Sie erscheinen derzeit, in humanisierter Form, aufgrund Ihrer Spezifität und hohen Affinität für den TSH-Rezeptor für die erfindungsgemäße Verwendung zur Therapie

des Morbus Basedow besonders geeignet. Das soll jedoch die Verwendung anderer, im gleichen Sinne blockierend wirkender Antikörpern gegen den TSH-Rezeptor nicht als nicht unter die vorliegende Erfindung fallend ausschließen. So ist nicht
5 ausgeschlossen, daß blockierende Antikörper mit vergleichbaren Eigenschaften existieren, die an andere Aminosäuresequenzen des TSH-Rezeptors, insbesondere seiner extrazellulären Domäne, binden und daher ebenfalls eingesetzt werden können. Ferner können auch polyklonale Antikörper, die mit
10 gleicher Wirkung an eine oder mehrere Sequenzen des TSH-Rezeptors binden, zur Anwendung kommen. Die Antikörper können ferner tierische bzw. humanisierte tierische Antikörper sein, können jedoch auch humane Antikörper sein, die z.B. durch selektive Isolierung aus geeigneten Patientensen
15 ren gewonnen wurden, oder humane monoklonale Antikörper, wie sie z.B. durch die Technik der sog. EBV-Transformierung hergestellt werden können (vgl. N.G.Morgenthaler et al., J.Clin.Endocrinol.Metab. 81: 3155-3161, 1996) Derartige Antikörper können auch in Form ihrer spezifisch an den TSH-
20 Rezeptor bindenden Fragmente, z.B. Fab oder Fab' Fragmente ohne Fc-Teil, eingesetzt werden. Ferner können die Antikörper oder Antikörperfragmente auch in Form geeigneter Konjugate, gebunden an Carrier-Moleküle, die inert sein können, die jedoch auch zusätzliche therapeutische Aufgaben erfüllen
25 können, eingesetzt werden. Auch Gemische von verschiedenen derartigen Antikörpern, z.B. Kombinationen von verschiedenen monoklonalen Antikörpern, sind prinzipiell verwendbar.

Die erfindungsgemäß zu verwendenden blockierenden Antikörper
30 sind solche, die durch Bindung an den extrazellulären Teil des TSH-Rezeptors die Wirkung von TSH und stimulierenden TSH-Rezeptor-Autoantikörpern aufheben. Sie weisen eine ausreichend hohe Affinität zum TSH-Rezeptor auf, um in für einen therapeutischen Einsatz geeigneten Konzentrationen
35 erfolgreich TSH und stimulierende Autoantikörper von diesem TSH-Rezeptor verdrängen bzw. fernhalten zu können.

Die erfindungsgemäß zu verwendenden Autoantikörper werden in einer Form verabreicht, wie sie für Antikörpertherapien typisch ist. Üblicherweise werden Injektionslösungen, gegebenenfalls Infusionslösungen, zur Verfügung gestellt, die
5 die für die Behandlung vorgesehenen blockierenden Antikörper in einem wäßrigen, physiologischen Trägermedium enthalten. Das Medium kann die für derartige Medien üblichen schützenden oder stabilisierenden Zusätze sowie gegebenenfalls auch nährnde oder den Behandlungserfolg auf andere Weise fördernde Zusätze enthalten. Die Anwesenheit weiterer Wirkstoffe, insbesondere solcher mit einem Einfluß auf das
10 Immungeschehen, wird ausdrücklich als mögliche Ausführungsvariante der erfindungsgemäßen Verwendung blockierender Antikörper zur Behandlung des Morbus Basedow angesehen.

Die für eine individuelle Behandlung empfehlenswerte oder erforderliche Menge und Konzentration der zu verabreichenden blockierenden Antikörper ist gegebenenfalls unter Berücksichtigung des individuellen Krankheitszustands des Patienten festzulegen. So können schwere Krankheitserscheinungen
20 bzw. hohe Titer an TRAb einen Einsatz höherer Mengen und Konzentrationen der erfindungsgemäß zu verwendenden Antikörper erfordern als schwächer ausgeprägte Krankheitssymptome mit niedrigeren Autoantikörpertitern. Geeignete Mengen und Konzentrationen können anhand der Beobachtung des Therapieerfolges empirisch festgelegt werden, ohne daß diesbezüglich
25 besondere Probleme zu erwarten wären.

Nachfolgend wird die Erfindung ergänzend durch Versuchsergebnisse erläutert, die die Gewinnung, Isolierung und, unter Bezugnahme auf drei Figuren, die Prüfung von monoklonalen blockierenden Antikörpern gegen den TSH-Rezeptor erläutern, wie sie, gegebenenfalls nach einer an sich bekannten Humanisierung, zur Grundlage der erfindungsgemäßen
30 Verwendungen gemacht werden können.

In den Figuren zeigen:

Figur 1 die spezifische Unterdrückung der cAMP-Bildung von JP09 CHO Zellen durch fünf monoklonale blockierende Antikörper in Gegenwart von bovinem TSH im Bioassay;

Figur 2 die spezifische Unterdrückung der cAMP-Bildung von JP09 CHO Zellen durch zwei monoklonale blockierende Antikörper in Gegenwart von 4 Morbus Basedow Seren im Bioassay; und

Figur 3 die spezifische Unterdrückung der cAMP-Bildung von JP09 CHO Zellen durch einen monoklonalen blockierenden Antikörper in Gegenwart von 21 Morbus Basedow Seren sowie des LATS Standards im Bioassay.

Erzeugung und Charakterisierung von monoklonalen blockierenden Antikörpern gegen den humanen TSH-Rezeptor

Die Erzeugung, Selektion und Charakterisierung von erfindungsgemäß verwendbaren monoklonalen Antikörpern gegen den humanen TSH-Rezeptor erfolgte weitgehend unter Verwendung vorbeschriebener Materialien und Techniken. Eine detaillierte Beschreibung derartiger Materialien und Techniken wurde im nachfolgenden experimentellen Teil durch einen Verweis auf die einschlägigen Literaturstellen ersetzt, soweit dadurch das Verständnis und die Nacharbeitbarkeit nicht ernsthaft beeinträchtigt wird.

Immunisierung und Erzeugung von Hybridomas

Die extrazelluläre Domäne (ECD) des humanen TSH-Rezeptors (Aminosäuren 1-415) wurde in Form eines Fusionsproteins mit Glutathion-S-transferase in einem prokaryontischen Expressionssystem hergestellt (vgl. Harfst, E. et al., J. Mol. Endocrinol. 9, 1992, S.227-236).

Mit dem erhaltenen prokaryontisch exprimierten ECD-Glutathion-S-transferase-Fusionsprotein wurden BALB/c-Mäuse immunisiert, und die Herstellung und das Klonieren von Hybridomas erfolgte so wie in näheren Einzelheiten beschrieben ist in Johnstone, A.P. et al., Mol.Cell.Endocrinol. 105, 1994, R1-R9.

Die Überstände der klonierten Hybridomas wurden mittels "Flow cytofluorimetry" gemäß der Arbeitsweise gescreent, die ebenfalls beschrieben ist in Johnstone, A.P. et al., Mol.Cell.Endocrinol. 105, 1994, R1-R9, wobei als Bindungsreagens die vorbeschriebenen Zelllinien "FLD4" und "FLEA.2" verwendet wurden. Diese Zelllinien sind abgeleitet von transformierten CHO-K1-Zellen und exprimieren unterschiedliche Mengen des funktionalen humanen TSH-Rezeptors voller Länge, gekoppelt an Adenylatcyclase, wobei das vielfältigbare Glutaminsynthetase-Expressionssystem zur Anwendung kommt, wie detailliert beschrieben ist in Harfst, E. et al., Mol. Cell. Endocrinol. 83, 1992, S.117-123, und in Harfst, E., Johnstone, A.P., Anal. Biochem. 207, 1992, S.80-84.

Reinigung von monoklonalen Antikörpern

Hybridomas wurden in Spinner-Kulturen in UltraDoma-PF (BioWhittaker, Walkerville, Maryland, USA), enthaltend 2% FCS und 100 IU/ml Streptomycin, gezüchtet. Antikörper wurden aus den Überständen der Gewebekulturen mittels Affinitätschromatographie an Protein A (mit den für IgG1 geeigneten hohen Salz- und pH-Puffer-Modifikationen) isoliert, wie beschrieben ist in Johnstone, A.P., Thorpe, R., 1996, Immunochimistry in Practice, 3. Auflage, Blackwell Science Ltd., Oxford.

Charakterisierung der Antikörper verschiedener Hybridomas

Die Antikörper wurden durch Immunpräzipitation mit Zellen von den hTSH-Rezeptor exprimierenden rekombinanten Zell-
5 linien nach der in vivo Markierung des Rezeptorproteins mit [³⁵S]-Methionin, sowie ferner durch Immun- (bzw. Protein-) Blotting mit der extrazellulären Domäne des hTSHR (vgl. Harfst E., et al., J.Mol.Endocrinol., 9, 1992, 227-236) auf ihr Bindungsverhalten gegenüber dem rekombinanten hTSH-
10 Rezeptor untersucht. Beim Immun-Blotting wurden die blockierten Membranen mit extrazellulären Domänen des hTSH-Rezeptors für 1-2h in Hybridoma-Kulturüberstand, auf ein Viertel verdünnt in 200 mM NaCl, 50 mM Tris-HCl, pH 7,4, inkubiert und dann gewaschen. Gebundene Antikörper wurden
15 mittels eines zweiten Antikörpers (Peroxidase-Konjugat eines Anti-Maus Immunglobulins) und eines handelsüblichen Chemilumineszenz-Systems nachgewiesen und aufgrund ihrer Reaktion mit dem rekombinanten hTSH-Rezeptor selektiert.

20 Die selektierten monoklonalen Antikörper wurden mittels eines cAMP-Bioassays (Page, S.R. et al., J. Endocrinol. 126, 1990, S. 333-340) sowie in einem Radioliganden-Assay im Hinblick auf ihre Fähigkeit, mit radioaktiv markiertem bovinem TSH um die von den Zelllinien "FLD4" und "FLEA.2"
25 (s.o.) exprimierten hTSH-Rezeptoren zu kompetieren (vgl. Harfst, E. et al., Mol. Cell. Endocrinol. 83, 1992, S.117-123, und Harfst, E., Johnstone, A.P., Anal. Biochem. 207, 1992, S.80-84), näher charakterisiert. Dazu wurden Hybridoma-Kulturüberstände bzw. die daraus durch Reinigung gewonnenen
30 IgG-Fractionen (gereinigten monoklonalen Antikörper) und radioaktiv markiertes bovines TSH mit den genannten Zellen inkubiert, wonach die daran gebundene Radioaktivität ermittelt wurde. Die untersuchten Antikörper inhibierten die TSH-Bindung.

Ermittlung der zugehörigen Antikörper-bindenden Epitope des hTSH-Rezeptors

Die Bindungsstellen (Epitope) der selektierten monoklonalen Antikörper an die extrazelluläre Domäne des hTSHR wurden unter Verwendung einer Vielzahl von überlappenden kurzen synthetischen Teilpeptiden aus der ECD des hTSH-Rezeptors auf Cellulose-Membranen mit Hilfe eines kommerziellen Kits (SPOTS Kit, Genosys) genauer bestimmt.

Dabei zeigte sich, daß alle aufgrund ihrer Bindung an den hTSH-Rezeptor selektierten Antikörper mit Aminosäuresequenzen aus dem Bereich der Aminosäuren 335-390 des humanen TSH-Rezeptors reagierten, und daß außerdem keiner der Antikörper im cAMP-Bioassay die cAMP-Bildung von rekombinanten hTSHR-Zelllinien stimulierte. Fünf selektierte Antikörper von stabilen Hybridomas reagierten mit einer kurzen Peptidsequenz mit den vier Aminosäuren 381-384 des humanen TSH-Rezeptors (FDSH bzw. Phe Asp Ser His), wobei die erhaltene Bindung verstärkt werden kann, wenn die kurzen Peptide zusätzlich bis zu drei der angrenzenden Aminosäuren 385 bis 387 (YDY bzw. Tyr Asp Tyr) bzw. 378 bis 381 (LQA bzw. Le Gln Ala) aufwiesen. Diejenigen der selektierten Antikörper mit den höchsten Affinitäten für den hTSH-Rezeptor inhibierten im o.g. kompetitiven Radioligandenassay bei 1 µg/ml die Bindung des radioaktiven bovinen TSH zu 80-90% und bei 0,1 µg/ml immer noch zu mehr als 50%.

In Form von geeignet markierten oder fixierten Peptiden, die der o.g. Sequenz 378-387 bzw. einer Teilsequenz davon entsprechen, stehen nunmehr auch Mittel zur Verfügung, die es erheblich erleichtern können, in Hybridoma-Überständen von bei der Nacharbeitung der o.g. Arbeitsweisen erhaltenen Klonen solche monoklonalen Antikörper zu identifizieren, die ein geeignetes Bindungsverhalten im Sinne der vorliegenden Erfindung aufweisen.

Inhibierung der Bindung von TSAb aus Seren von Morbus Basedow Patienten

Fünf monoklonale Antikörper, die bei den vorstehend
5 beschriebenen Versuchen erzeugt wurden, die an die o.g.
Aminosäuresequenz 381-384 des hTSH-Rezeptors binden und die
nachfolgend mit 1B1, 7E3, 4E9, 3H10 und 4C1 bezeichnet
werden, wurden auf ihre Eignung untersucht, im eingangs er-
wähnten Bioassay (N.G. Morgenthaler et al. in Horm. Metab.
10 Res. 30 (1998), S. 162-168) die Bindung von bovinem TSH und
von stimulierenden Autoantikörpern aus den Seren von Morbus
Basedow Patienten an einen rekombinant exprimierten hTSH-
Rezeptor, erkennbar an einer Stimulation der cAMP-Produk-
tion, zu unterdrücken.

15 Dazu wurden JP09 CHO-Zellen jeweils mit 1 μ U (Fig.1, schwar-
ze Balken) bzw. 10 μ U (Fig.1, weiße Balken) bovinem TSH pro
Well und Zugabe des jeweiligen zu prüfenden Antikörpers
inkubiert. Zur Kontrolle wurde auch ein andersartiger Anti-
20 körper (gegen Glutamatdecarboxylase; GAD) eingesetzt, der
keinerlei Wirkung zeigte. Die Ergebnisse sind in Fig.1
gezeigt, und es ist klar zu erkennen, daß alle fünf unter-
suchten Antikörper die Stimulation der cAMP-Produktion
unterdrücken.

25 Der Versuch wurde mit den Antikörpern 7E3 und 3H10 sowie
zwei andersartigen Antikörpern (GAD; CT21) wiederholt, wobei
jedoch anstelle des bovinen TSH Seren von 4 verschiedenen
Morbus Basedow Patienten zur Stimulation der cAMP-Produktion
30 eingesetzt wurden. Die Ergebnisse sind in Fig.2 gezeigt. Es
ist deutlich zu erkennen, daß in Gegenwart der Antikörper
7E3 und 3H10 die Bildung von cAMP deutlich unterdrückt ist.

35 In einem weiteren Versuch wurde im gleichen Bioassay die
Unterdrückung der cAMP Produktion durch den Antikörper 7E3
in Gegenwart von 5 Normalseren (N), 21 Seren von Morbus
Basedow Patienten (P) und von LATS (internationaler Standard

- long acting thyroid stimulator) bestimmt. Zum Vergleich wurden wiederum die Ergebnisse in Gegenwart eines andersartigen Antikörpers (CT21; monoklonaler Antikörper gegen Procalcitonin) gemessen. Die Ergebnisse sind in Fig.3 gezeigt. Es ist wiederum deutlich zu erkennen, daß der Antikörper 7E3 in 20 von 22 Fällen die Bildung von cAMP wirksam unterdrückt.

Im Hinblick auf die Möglichkeit, mit blockierenden Antikörpern Hyperthyreosen aufgrund aktivierender Mutationen zu behandeln, wird auf die Werte für die Kontrollseren bzw. Normalseren in den Figuren 2 und 3 verwiesen: In allen Fällen war die cAMP-Produktion der Testzellen in Gegenwart der blockierenden Antikörper im Vergleich mit antikörperfreien Seren bzw. gegenüber Seren mit "andersartigen" Antikörpern erkennbar herabgesetzt. Das deutet auf eine Wirkung der blockierenden Antikörper hin, die über die reine Verhinderung der Stimulierung der Schilddrüse durch TSH bzw. stimulierende Autoantikörper hinausgeht.

Patentansprüche

- 5 1. Verwendung von blockierenden Antikörpern gegen den humanen TSH-Rezeptor (hTSH-Rezeptor) oder ihrer spezifisch bindenden Fragmente zur Behandlung von Hyperthyreosen, die auf stimulierende Autoantikörpern gegen den hTSH-Rezeptor (Morbus Basedow) oder eine Überstimulation der Schilddrüse
10 durch endogenes TSH oder auf aktivierende Mutationen des hTSH-Rezeptors zurückzuführen sind, und zur Behandlung der endokrinen Orbitopathie.
- 15 2. Verwendung von blockierenden Antikörpern gegen den humanen TSH-Rezeptor (hTSH-Rezeptor) oder ihrer spezifisch bindenden Fragmente zur Herstellung von Arzneimitteln zur Behandlung von Hyperthyreosen, die auf stimulierende Autoantikörpern gegen den hTSH-Rezeptor (Morbus Basedow) oder eine Überstimulation der Schilddrüse durch endogenes TSH
20 oder auf aktivierende Mutationen des hTSH-Rezeptors zurückzuführen sind, und zur Behandlung der endokrinen Orbitopathie.
- 25 3. Verwendung nach Anspruch 2 zur Herstellung von per Injektion oder Infusion zu verabreichenden Arzneimitteln.
- 30 4. Verwendung nach einem der Ansprüche 1, 2 oder 3, bei der der zu verwendende blockierende Antikörper gegen den hTSH-Rezeptor ein monoklonaler Antikörper ist, der eine kurze Peptidsequenz erkennt, die die Aminosäuren FDSH (Phe Asp Ser His) sowie gegebenenfalls zusätzliche flankierende Aminosäuren aus der extrazellulären Domäne des hTSH-Rezeptors aufweist.
- 35 5. Verwendung nach einem der Ansprüche 1, 2, 3, oder 4, bei der der zu verwendende blockierende Antikörper ein monoklonaler humaner oder tierischer Antikörper oder ein

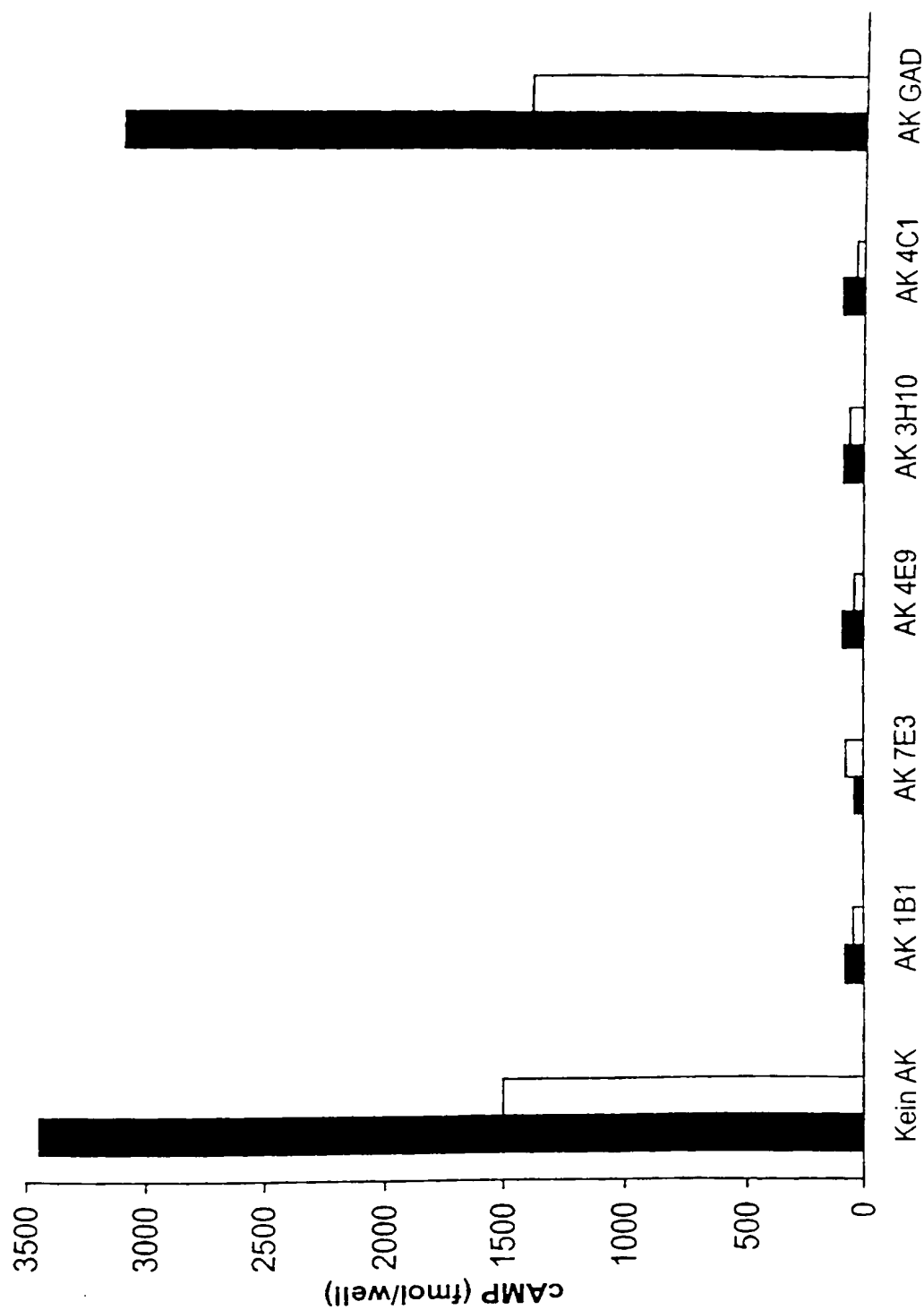
humanisierter monoklonaler tierischer Antikörper ist.

6. Verwendung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, bei der
der zu verwendende blockierende Antikörper ausgewählt ist
5 aus einem oder mehreren der Antikörper, die am 19.2.1999
unter den folgenden Bezeichnungen bei der DSMZ, Braun-
schweig, nach dem Budapester Vertrag hinterlegten Hybridom-
zellen produziert werden: 4E9/B2/C1 (DSM ACC2389); 4C1/E1/G8
(DSM ACC2390); 1B1/E10/B11/C12 (DSM ACC2391); 7E3/F8/E3 (DSM
10 ACC2392); 3H10/A11/A1 (DSM ACC2393).

7. Monoklonaler Antikörper gegen den hTSH-Rezeptor mit die
Bindung von TSH und/oder von stimulierenden Autoantikörpern
an den hTSH-Rezeptor blockierenden Eigenschaften, der da-
15 durch gekennzeichnet ist, daß er eine kurze Peptidsequenz
erkennt, die die Aminosäuren FDSH (Phe Asp Ser His) sowie
gegebenenfalls zusätzliche flankierende Aminosäuren aus der
extrazellulären Domäne des hTSH-Rezeptors aufweist, und
seine spezifische, antigenbindende Bindungseigenschaften
20 aufweisenden Fragmente oder Konjugate.

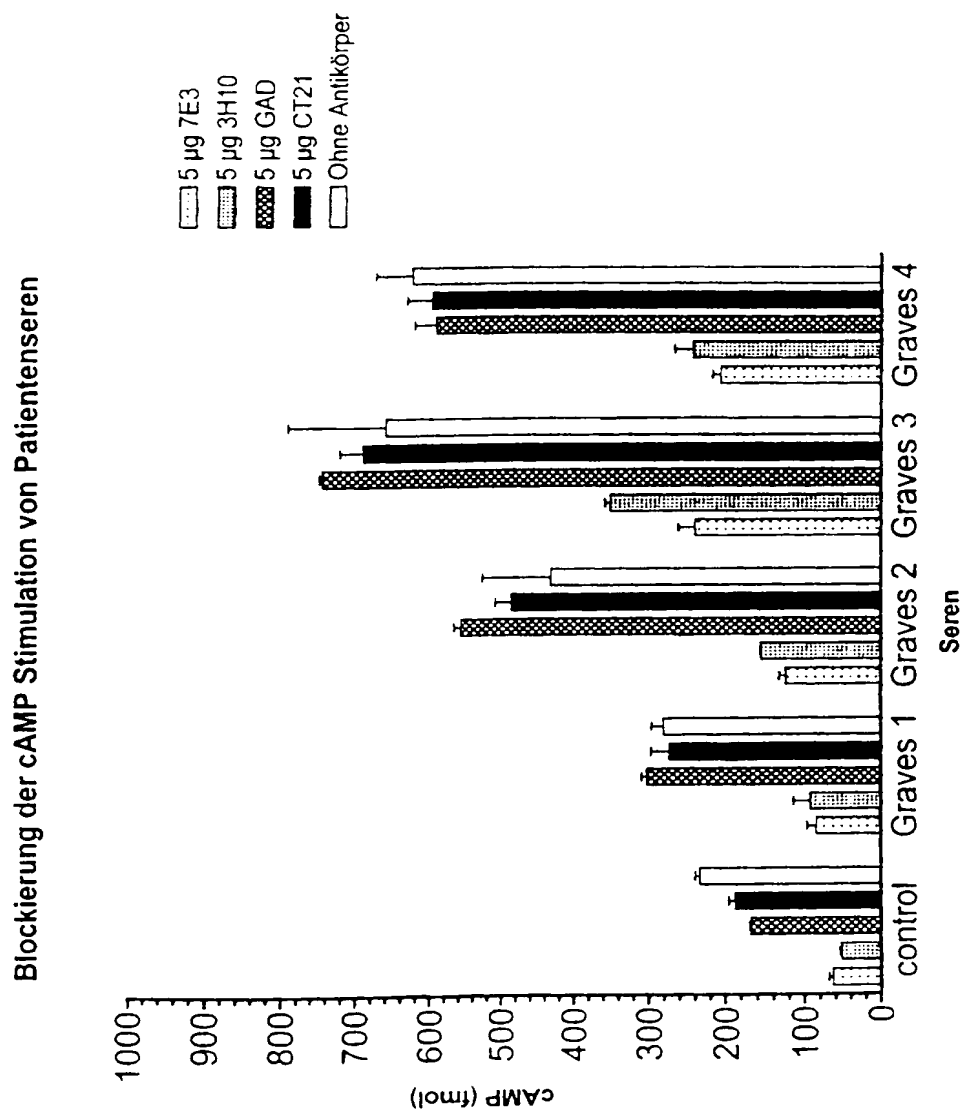
8. Monoklonaler Antikörper nach Anspruch 6, dadurch ge-
kennzeichnet, daß er ein humanisierter monoklonaler Antikör-
per aus der Maus ist.

9. Monoklonaler Antikörper, der von einer der unter den
Bezeichnungen 4E9/B2/C1 (DSM ACC2389); 4C1/E1/G8 (DSM
ACC2390); 1B1/E10/B11/C12 (DSM ACC2391); 7E3/F8/E3 (DSM
ACC2392); 3H10/A11/A1 (DSM ACC2393) bei DSMZ, Braunschweig,
30 nach dem Budapester Vertrag am 19.2.1999 hinterlegten Hybri-
domzellen produziert wird.



FIGUR 1

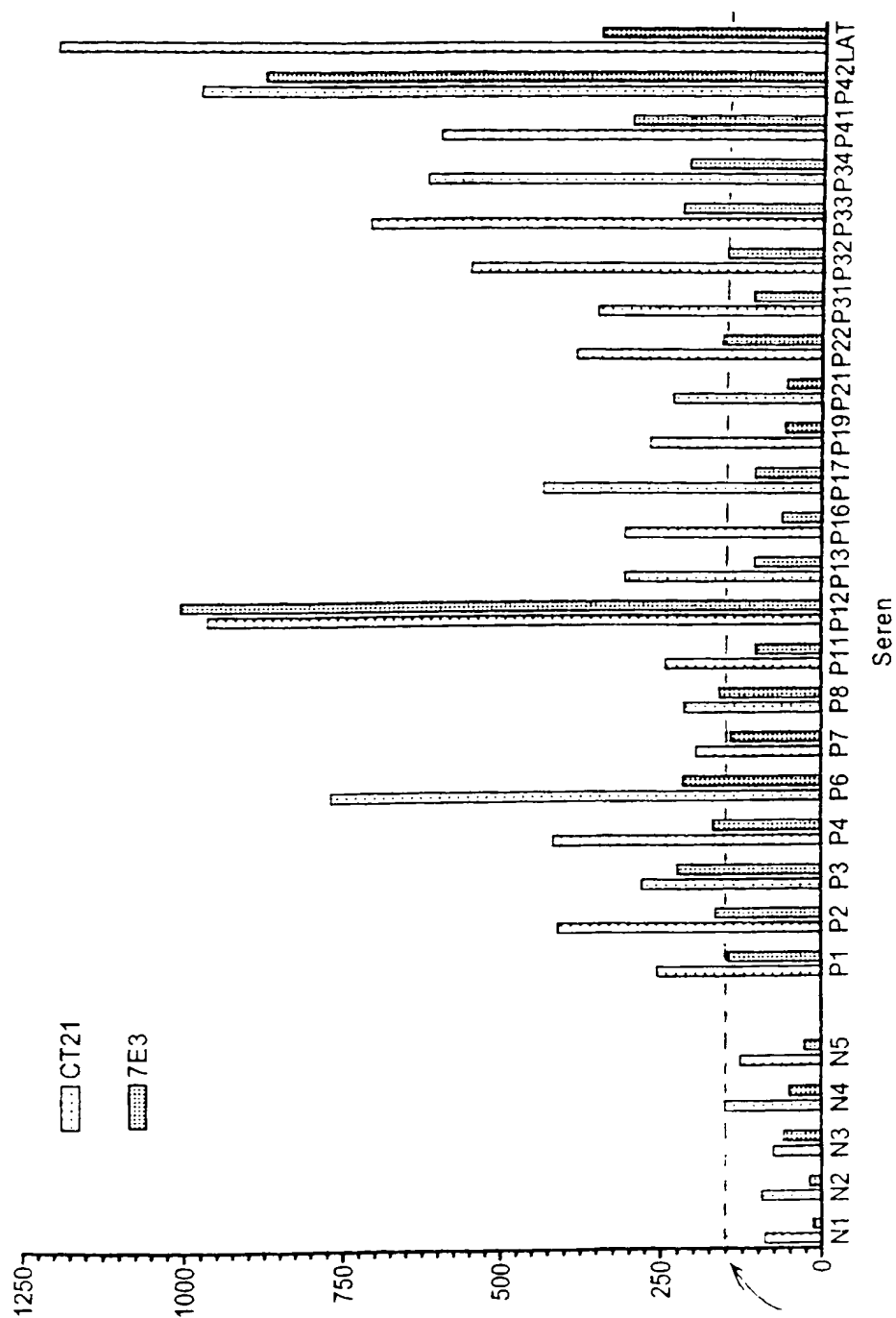




FIGUR 2



Blockierung der cAMP Stimulation von M. Basedow Seren



FIGUR 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/01304

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07K16/28 A61K39/395

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, BIOSIS, MEDLINE, EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ORGIAZZI J ET AL: "[Thyroid-stimulating hormone receptor and thyroid diseases]. Recepteur de la thyreostimuline (TSH) et dysthyroidie." REVUE DU PRATICIEN, (1994 MAY 1) 44 (9) 1184-91. XP000944211 the whole document	1-9
A	NICHOLSON, L. B. ET AL: "Monoclonal antibodies to the human TSH receptor: epitope mapping and binding to the native receptor on the basolateral plasma membrane of thyroid follicular cells" J. MOL. ENDOCRINOL. (1996), 16(2), 159-170 XP000943987 the whole document	1-9

☒ Further documents are listed in the continuation of box C☐ Patent family members are listed in annex.

Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 December 2000

Date of mailing of the international search report

0 8. 01. 01

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office P.B. 5818 Patentlaan 2
NL-2280 HV Rijswijk
Tel: +31 (0) 340-2040 Tx: 31 651 epo nl
Fax: +31 (0) 340-2016

Authorized officer

Mennessier, T



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 00/01304

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No
A	SEETHARAMAIAH, GATTADAHALLI S. ET AL: "Generation and characterization of monoclonal antibodies to the human thyrotropin (TSH) receptor: antibodies can bind to discrete conformational or linear epitopes and block TSH binding" ENDOCRINOLOGY (1995), 136(7), 2817-24 , XP000944028 the whole document	1-9
P,X	--- SHEPHERD, P. S. ET AL: "Identification of an important thyrotrophin binding site on the human thyrotrophin receptor using monoclonal antibodies" MOL. CELL. ENDOCRINOL. (1999 MARCH 25), 149(1-2), 197-206 , XP000944024 the whole document -----	1-9

